

3. Алексеев, В.В. Медицинские лабораторные технологии. Руководство в 2 томах / В.В. Алексеев, А.И. Карпищенко. – М. : ГЭОТАР-Медиа. – 2013. – Т. 2. – 792 с.

4. Протеолитическая активность нейтрофильной эластазы как прогностический фактор развития заболеваний сердечно-сосудистой системы / В.К. Окулич [и др.] // Вестн. ВГМУ. – 2016. – Т. 15, № 2. – С. 17–26.

УДК 619:636.2:612.621

ВЛИЯНИЕ ОПТИМИЗИРОВАННОГО РАЗБАВИТЕЛЯ НА ОСНОВЕ ФОСФОЛИПИДОВ НА БИОЛОГИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ СПЕРМЫ БЫКА И ЧЕЛОВЕКА

Зайцева В.В.

УО «Витебский государственный медицинский университет»

Введение. Окислительное фосфорилирование в клетках является наиболее эффективным механизмом энергообразования. Фосфолипиды играют роль не только пластических соединений, но и являются функционально активными веществами. Они регулируют многие ферментные реакции, в т.ч. окислительное фосфорилирование, участвуют в транспортировке минеральных веществ и органических соединений через биологические барьеры. Фосфолипидный состав спермиев имеет большое значение для их жизнедеятельности и биологических свойств. Исходя из вышеуказанного, фосфолипиды могут быть использованы при разработке новых разбавителей для спермы и методов их длительного хранения.

Многие важные коферменты сосредоточены преимущественно в митохондриях. Другие ферментные системы не связаны с отдельными органеллами клетки, а присутствуют в цитоплазме в растворенном виде. Оценка структуры, морфологической организации и химического состава спермиев свидетельствует о сложной биологической деятельности, протекающей в половой клетке, и требует от исследователей и специалистов строго их соблюдать при работе со спермой.

Спермии по разному чувствительны к изотоническим растворам электролитов. Соли с двухвалентным катионом (кальций, магний, барий, стронций) вызывают агглютинацию спермиев, а с трех- и четырехвалентными катионами (алюминий, железо) – коагглютинацию. В этом и другом случае половые клетки быстро погибают. По отношению к анионам существует противоположная зависимость: чем больше валентность соли, тем благоприятнее их действие на спермии. Так, наиболее благоприятное действие оказывают соли с трехвалентным анионом (цитрат), менее благоприятное – соли с двухвалентным (сульфат, тартрат) и одновалентным анионом (хлорид, нитрат, ацетат).

Влияние состава разбавителя спермы на биологическую активность спермиев активно изучали отечественные и зарубежные ученые [1, 3].

Цель работы – изучить влияние состава оптимизированного разбавителя на основе фосфолипидов на биологические показатели спермы быка и человека.

Материал и методы. В работе использовали образцы спермы быка, представленные РПСУП «Витебское племпредприятие» кафедре акушерства, гинекологии и биотехнологии размножения УО ВГАВМ для проведения учебного процесса и научно-исследовательской работы. Оценку образцов спермы осуществляли по ГОСТ 32277-2013 [2]. Использовали также образцы спермы человека. Опытную работу проводили на кафедре акушерства, гинекологии и биотехнологии размножения УО ВГАВМ и ООО «Мир Здоровья».

В работе использовали разработанные и изготовленные нами опытные составы разбавителя спермы: *Состав 1.* Глюкоза – 1,5%, натрий лимоннокислый трехзамещенный – 2,9%, фосфолипиды – 10,0 мг, вода очищенная до 100,0%. *Состав 2.* Глюкоза – 3,0%, натрий лимоннокислый трехзамещенный – 2,9%, фосфолипиды – 10,0 мг, вода очищенная до 100%. *Состав 3.* Глюкоза – 6,0%, натрий лимоннокислый трехзамещенный – 2,9%, фосфолипиды – 10,0 мг, вода очищенная до 100%. *Состав 4.* Глюкоза – 3,0%, натрий лимоннокислый трехзамещенный – 1,5%, фосфолипиды – 10,0 мг, вода очищенная до 100%. *Состав 5.* Глюкоза – 3,0%, натрий

лимоннокислый трехзамещенный – 1,5%, фосфолипиды – 15,0 мг, вода очищенная до 100%. Состав 6. Глюкоза – 3,0%, натрий лимоннокислый трехзамещенный – 3,0%, фосфолипиды – 5,0 мг, вода очищенная до 100%.

Результаты исследований. При хранении спермы быка и человека вне организма, в ней быстро образуются продукты кислотного обмена и происходит гибель спермиев из-за накопления в плазме молочной кислоты и снижения ее буферной емкости. При этом ионный состав применяемых для разбавления спермы сред должен качественно приближаться к ионному составу их протоплазмы.

Способность спермиев к движению определила метод оценки их жизнеспособности. Подвижность и живучесть определяется содержанием в спермиях АТФ. Эндогенные запасы АТФ у спермиев быстро расходуются на движение и поэтому должна постоянно восполняться. Нормальным считается, когда спермии двигаются прямолинейно-поступательно (ППД).

В первом опыте нами изучено влияние разбавителей на основе фосфолипидов на выживаемость спермиев быка образца № 1 с подвижностью у $70,0 \pm 2,37\%$ половых клеток (табл. 1).

Таблица 1 – Влияние состава разбавителя на основе фосфолипидов на биологические показатели спермиев быка образца № 1

Биологические показатели спермиев быка	Состав разбавителя					
	№ 1	№ 2	№ 3	№ 4	№ 5	№ 6
Подвижность спермиев (%): до разведения	$70,0 \pm 2,37$	$70,0 \pm 2,37$	$70,0 \pm 2,37$	$70,0 \pm 2,37$	$70,0 \pm 2,37$	$70,0 \pm 2,37$
После разведения: через 5 мин	$66,6 \pm 1,29$	$69,4 \pm 1,93$	$68,8 \pm 1,93$	$66,6 \pm 1,29$	$68,4 \pm 1,93$	$68,5 \pm 1,5$
через 60 мин	$50,6 \pm 1,5$	$62,2 \pm 1,5$	$58,6 \pm 1,5$	$50,6 \pm 1,5$	$52,8 \pm 1,29$	$57,8 \pm 1,5$
через 120 мин	$43,2 \pm 1,1$	$58,8 \pm 1,5$	$51,4 \pm 1,29$	$43,2 \pm 1,1$	$45,5 \pm 1,29$	$50,4 \pm 1,29$
через 180 мин	$35,3 \pm 0,86$	$56,5 \pm 1,5$	$45,2 \pm 1,1$	$35,3 \pm 0,86$	$36,6 \pm 0,86$	$44,2 \pm 1,1$
через 240 мин	$27,3 \pm 0,6$	$54,2 \pm 1,29$	$35,4 \pm 0,86$	$27,3 \pm 0,6$	$28,3 \pm 0,6$	$36,4 \pm 0,86$
через 300 мин	$20,8 \pm 0,6$	$50,4 \pm 1,29$	$31,2 \pm 0,6$	$20,8 \pm 0,6$	$22,4 \pm 0,86$	$32,2 \pm 0,6$

Из таблицы 1, видно, что через 5 часов инкубации при температуре $(37 \pm 1)^\circ\text{C}$ образца спермы быка № 1 в разбавителях № 1, 4 и 5 выживали $20,8 \pm 0,6$ – $22,4 \pm 0,86\%$ спермиев, а в разбавителях № 3 и 6, соответственно, $31,2 \pm 0,6$ и $32,2 \pm 0,6\%$. Максимально высокая выживаемость отмечалась в разбавителе № 2 у спермиев быка образца № 1 и составляла $50,4 \pm 1,29$, т.е. составляла 72,0% от исходной до разбавления.

Во втором опыте использовали образец спермы быка № 2 и 3 с исходной жизнеспособностью, соответственно, $80,8 \pm 1,93\%$ и $71,6 \pm 1,93\%$. Как видно из данных, представленных в таблице № 2, при использовании спермы с исходной жизнеспособностью $71,6 \pm 1,93\%$ показатели выживаемости спермиев в разбавителях № 1–6 были схожи с таковыми при использовании спермы быка образца № 1, что указывает на воспроизводимость и достоверность результатов опыта.

Таблица 2 – Влияние состава разбавителя на основе фосфолипидов на биологические показатели спермиев быка образца № 3

Биологические показатели спермиев быка	Состав разбавителя					
	№ 1	№ 2	№ 3	№ 4	№ 5	№ 6
Подвижность спермиев (%): до разведения	$71,6 \pm 1,93$	$71,6 \pm 1,93$	$71,6 \pm 1,93$	$71,6 \pm 1,93$	$71,6 \pm 1,93$	$71,6 \pm 1,93$
После разведения: через 5 мин	$69,8 \pm 1,29$	$69,6 \pm 1,93$	$69,5 \pm 1,93$	$69,2 \pm 1,5$	$69,6 \pm 1,5$	$69,2 \pm 1,5$
через 60 мин	$54,2 \pm 1,5$	$64,4 \pm 1,5$	$62,4 \pm 1,5$	$58,2 \pm 1,5$	$60,2 \pm 1,29$	$61,6 \pm 1,5$
через 120 мин	$46,4 \pm 1,1$	$60,2 \pm 1,29$	$53,8 \pm 1,5$	$48,6 \pm 1,5$	$50,4 \pm 1,5$	$54,0 \pm 1,29$
через 180 мин	$35,6 \pm 1,1$	$57,4 \pm 1,29$	$43,5 \pm 1,1$	$36,2 \pm 0,86$	$38,4 \pm 0,86$	$45,2 \pm 1,1$
через 240 мин	$26,8 \pm 0,6$	$54,6 \pm 1,29$	$35,6 \pm 0,86$	$27,0 \pm 0,6$	$28,2 \pm 0,6$	$36,2 \pm 0,86$
через 300 мин	$21,2 \pm 0,6$	$50,8 \pm 1,29$	$30,4 \pm 0,86$	$20,6 \pm 0,6$	$21,6 \pm 0,6$	$31,2 \pm 0,6$

Кроме этого, в ходе исследований установили, что при использовании в опыте спермы быка образца № 2 и человека образца № 2 с исходной жизнеспособностью, соответственно, $80,8 \pm 1,93\%$ и $80,8 \pm 1,5\%$ при использовании разбавителей № 1–6 отмечались примерно схожие показатели выживаемости спермиев (таблицы 3 и 4). При этом, разбавитель № 2 обеспечивал выживаемость спермиев быка образца № 2 и человека образца № 2 через 5 час инкубации при температуре $(37 \pm 1)^\circ\text{C}$, соответственно, у $60,2 \pm 1,5$ и $60,8 \pm 1,5\%$ половых клеток или относительно исходной у $74,5\%$ и $75,2\%$.

Таблица 3 – Влияние состава разбавителя на основе фосфолипидов на биологические показатели спермиев быка образца № 2

Биологические показатели спермиев быка	Состав разбавителя					
	№ 1	№ 2	№ 3	№ 4	№ 5	№ 6
Подвижность спермиев (%): до разведения	$80,8 \pm 1,93$	$80,8 \pm 1,93$	$80,8 \pm 1,93$	$80,8 \pm 1,93$	$80,8 \pm 1,93$	$80,8 \pm 1,93$
После разведения: через 5 мин	$79,8 \pm 1,93$	$79,6 \pm 1,93$	$79,2 \pm 1,93$	$79,4 \pm 1,93$	$80,4 \pm 1,7$	$80,2 \pm 1,7$
через 60 мин	$71,4 \pm 1,7$	$68,8 \pm 1,7$	$63,2 \pm 1,7$	$63,5 \pm 1,5$	$71,3 \pm 1,7$	$71,2 \pm 1,7$
через 120 мин	$62,4 \pm 1,5$	$62,4 \pm 1,5$	$57,4 \pm 1,29$	$47,5 \pm 1,29$	$58,4 \pm 1,5$	$62,6 \pm 1,5$
через 180 мин	$48,4 \pm 1,29$	$59,2 \pm 1,5$	$53,2 \pm 1,1$	$36,2 \pm 0,86$	$47,2 \pm 1,1$	$52,4 \pm 1,1$
через 240 мин	$36,6 \pm 1,1$	$56,5 \pm 1,5$	$48,8 \pm 1,1$	$26,3 \pm 0,6$	$36,2 \pm 0,86$	$48,2 \pm 1,1$
через 300 мин	$31,6 \pm 1,1$	$60,2 \pm 1,5$	$40,8 \pm 0,86$	$21,4 \pm 0,6$	$31,2 \pm 0,86$	$40,8 \pm 0,86$

Таблица 4 – Влияние состава разбавителя на основе фосфолипидов на биологические показатели спермиев человека образца № 2

Биологические показатели спермиев человека	Состав разбавителя					
	№ 1	№ 2	№ 3	№ 4	№ 5	№ 6
Подвижность спермиев (%): до разведения	$80,8 \pm 1,5$	$80,8 \pm 1,5$	$80,8 \pm 1,5$	$80,8 \pm 1,5$	$80,8 \pm 1,5$	$80,8 \pm 1,5$
После разведения: через 5 мин	$80,2 \pm 1,5$	$79,4 \pm 1,5$	$79,8 \pm 1,5$	$79,6 \pm 1,5$	$80,4 \pm 1,5$	$79,6 \pm 1,7$
через 60 мин	$71,4 \pm 1,7$	$68,6 \pm 1,7$	$69,8 \pm 1,7$	$64,4 \pm 1,5$	$72,2 \pm 1,7$	$70,8 \pm 1,7$
через 120 мин	$57,5 \pm 1,7$	$61,6 \pm 1,5$	$59,6 \pm 1,29$	$48,0 \pm 1,29$	$60,2 \pm 1,5$	$62,2 \pm 1,5$
через 180 мин	$46,3 \pm 1,29$	$58,4 \pm 1,5$	$52,2 \pm 1,1$	$35,4 \pm 0,86$	$48,4 \pm 1,1$	$56,0 \pm 1,5$
через 240 мин	$37,3 \pm 1,1$	$55,5 \pm 1,5$	$46,6 \pm 1,1$	$26,0 \pm 0,6$	$36,4 \pm 0,86$	$48,6 \pm 1,1$
через 300 мин	$30,6 \pm 1,1$	$60,8 \pm 1,5$	$39,8 \pm 0,86$	$20,6 \pm 0,6$	$30,6 \pm 0,86$	$40,4 \pm 0,86$

Из результатов, представленных в таблице № 5, видно, что максимально высокая выживаемость половых клеток человека образца спермы № 1 после ее инкубации в разбавителе № 2 в течение 5 час при температуре $(37 \pm 1)^\circ\text{C}$ и составила $78,3\%$ относительно исходного показателя.

Таблица 5 – Влияние состава разбавителя на основе фосфолипидов на биологические показатели спермиев человека образца № 1

Биологические показатели спермиев человека	Состав разбавителя					
	№ 1	№ 2	№ 3	№ 4	№ 5	№ 6
Подвижность спермиев (%): до разведения	78,2±1,5	78,2±1,5	78,2±1,5	78,2±1,5	78,2±1,5	78,2±1,5
После разведения: через 5 мин	78,0±1,5	78,2±1,5	77,8±1,5	78,0±1,5	77,4±1,5	77,6±1,5
через 60 мин	71,0±1,7	70,0±1,5	70,4±1,5	65,4±1,5	72,0±1,7	71,4±1,7
через 120 мин	64,2±1,7	63,2±1,29	64,2±1,29	50,2±1,29	61,2±1,5	63,3±1,5
через 180 мин	49,8±1,29	59,8±1,29	53,2±1,1	34,8±0,86	48,0±1,1	56,4±1,5
через 240 мин	36,4±1,1	56,0±1,5	46,2±1,1	25,5±0,6	35,8±0,86	46,6±1,1
через 300 мин	32,8±1,1	61,2±1,5	40,6±0,86	20,2±0,6	30,2±0,86	40,8±0,86

Выводы. Использование разбавителя с фосфолипидом оптимизированного по составу обеспечивает высокую выживаемость спермиев человека и быка после их инкубации в течение 5 час при температуре (37±1)°С не зависимо от исходной жизнеспособности.

Максимально высокая выживаемость спермиев человека и быка установлена в разбавителе № 2 и составляла относительно исходной, соответственно, 75,2–78,3% и 71,0–74,5%.

Литература:

1. Коноплева, А.П. Разбавители спермы и их влияние на эффективность искусственного осеменения / А.П. Коноплева, А.А. Андреева, Т.Н. Трохолис // Сб. науч. тр. ВНИТИП РАСХН. – Т. 85. – Сергиев Пасад, 2010. – С. 25–29.
2. Новый межгосударственный стандарт «Средства воспроизводства. Сперма. Методы испытаний физических свойств и биологического, биохимического, морфологического анализов». – ГОСТ 32277-2013. – С. 1–23.
3. Vishwanath, R. Storage of bovine semen in liquid and frozen state / R. Vishwanath, P. Shannon // Anim Reprod Sci. – 2000. – Vol. 62, N 1. – P. 25–53.

УДК 614.79:613.63:631.8

ОЦЕНКА РИСКА ДЛЯ РАБОТНИКОВ ПРИ ПРИМЕНЕНИИ ПЕСТИЦИДА НА ОСНОВЕ ТРИТРИКОНАЗОЛА И ПРОХЛОРАЗА В СЕЛЬСКОМ ХОЗЯЙСТВЕ

Ильюкова И.И., Камлюк С.Н., Васильева М.М., Анисович М.В., Иода В.И.

РУП «Научно-практический центр гигиены»

Введение. Расширение спектра и увеличение объемов производства средств защиты растений, включая пестициды, на сегодняшний день вносит значительный вклад в обострение фитосанитарной ситуации. Несмотря на широко известные негативные стороны использования пестицидных препаратов химического синтеза, обеспечение успешного ведения сельскохозяйственных работ в ближайшие десятилетия предполагает применение средств защиты растений химической природы.

При этом за основу профилактики отрицательного влияния пестицидов на здоровье человека и благополучия окружающей природной среды положено следование принятым нормативам содержания пестицидов во всех объектах окружающей среды; соблюдение сроков выдержки сельскохозяйственных продуктов (при определенных сроках хранения значительная часть пестицидов разлагается); проведение токсикологической оценки и разработки регламентов безопасного применения средств защиты растений [1].

В настоящей работе изложены результаты токсиколого-гигиенической характеристики пестицида на основе триконазола и прохлораза с разработкой и научным обоснованием регламентов применения данного препарата в сельскохозяйственном производстве.